

別紙 1 - 1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 Melissa Ranjit

論 文 題 目


Aberrant Active *cis*-Regulatory Elements Associated with Downregulation of RET Finger Protein Overcome Chemoresistance in Glioblastoma

(RET finger protein の発現低下に伴う異常なアクチブシス制御因子が膠芽腫の化学療法抵抗性を改善する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

阿部 健治 

名古屋大学教授

委員

勝野 雅央 

名古屋大学教授

委員

吉川 史隆 

名古屋大学教授

指導教授

若林 俊彦 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

RET finger protein (RFP) は histone deacetylase1(HDAC1)と複合体を形成し、H3K27 脱アセチル化異常とシス制御因子の異常調節を果たすことが知られている。今回、膠芽腫細胞とマウスモデルの両方でシス制御因子、遺伝子発現、テモゾロミド(TMZ)の化学療法抵抗性に RFP ノックダウン(KD)の修飾作用を評価した。RFP-KD と TMZ 投与を組み合わせることで、膠芽腫細胞の増殖は酸化的ストレスと異常細胞のために周期有意に抑制され、さらに GBM マウスモデルにおける生存期間も有意に延長した。H3K27ac ChIP-Seq および RNA-Seq 解析からは、RFP-KD により広範なシス制御因子活性の上昇または低下、およびその近傍の FOXO1, TBP-2 と PARPBP のようなアポトーシス、有糸分裂、DNA 複製と細胞周期に関連する遺伝子発現変化が起きていることが示された。当研究により、RFP が異常 H3K27ac の脱アセチル化を介して化学療法抵抗性に寄与していること、また RFP を標的とした治療と TMZ の組み合わせ及び RFP 結合性シス制御因子の調節が GBM の新規治療戦略となりうることが示された。

本研究に対し、以下の点を議論した。





1.RFP は HDAC1 と複合体を形成するため、RFP-KD によってシス制御因子における H3K27ac は全体的に増加すると予想していた。実際に多くのシス制御因子で H3K27ac の増加を検出したが、H3K27ac の減少を示すシス制御因子も多く見られた。H3K27ac gain 群で有意に発現が増加した遺伝子には、酸化ストレスを増大させる TBP-2, FOXO1 などが含まれていた。一方、H3K27ac loss 群で有意に発現が減少した遺伝子には細胞周期、細胞分裂、DNA 複製に関わるものが多く含まれていた。HDAC1 と RFP ChIP-qPCR の結果によれば、H3K27ac gain 群のシス制御因子において、RFP-HDAC1 複合体は H3K27ac を直接的に調節する。一方、H3K27ac loss 群のシス制御因子においては RFP の有意な結合性は示されず、間接的なアセチル化調節が行われていることが示唆された。

2.RFP は様々な作用機序を介して TMZ 抵抗性をもたらすと考えられる。RFP-KD によって酸化ストレス関連遺伝子である TBP-2, FOXO1 の発現が有意に増加しており、酸化的ストレスの作用機序は重要である。また本研究では、RFP-KD によって、BER 機構による TMZ 抵抗性獲得の重要因子である PARP1 結合タンパク(PARPBP)の発現が有意に低下することも証明した。

3.本研究に使用した細胞株(U87, T98, TGS-01)は全て GradeIV の神経膠腫から樹立されたものである。本研究で用いた全細胞株において、RFP-KD 後に TBP-2 の有意な発現増加を認めたが、TRX に関しては有意な増加を認めなかった。TBP-2 は TRX と直接結合し、TRX の活性を抑制することが知られている。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	Melissa Ranjit
試験担当者	主査  副査 ₁  副査 ₂  指導教授 			
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. RFPノックダウン後のH3K27部位のアセチル化状態について、またH3K27ac gain群よりH3K27ac loss群のシスエレメントがなぜ多く見られたのかについて 2. RFPが関与する化学療法抵抗性の獲得機序について 3. 本研究で使用したグリオーマ細胞の由来、およびRFPノックダウン後のTRXとTBP-2の発現について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、脳神経外科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				